Nicht einzeln im Buchhandel käuflich.

omaggio dell'a

A 300

Abdruck

aus dem

Anatomischen Anzeiger.

Centralblatt für die gesamte wissenschaftliche Anatomie.
Amtliches Organ der Anatomischen Gesellschaft.

Herausgegeben von

Prof. Dr. **Karl von Bardeleben** in **Jena.**

XXXV. Band. 1909.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Abdruck aus:
Anatomischer Anzeiger.
Centralblatt für die gesamte wissenschaftliche Anatomie.
Amtliches Organ der Anatomischen Gesellschaft.
Herausgegeben von Prof. Dr. **Karl von Bardeleben** in **Jena**.
Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.
XXXV. Band, No. 1, 1909.

Nachdruck verboten.

Contributo alla conoscenza dei lipoidi cellulari.

Per C. Ciaccio, Assistente e Libero-docente d'Istologia patologica.

(Istituto di Anatomia Chirurgica della R. Università di Palermo, diretto dal Prof. G. Parlavecchio.)

Grande è l'importanza, che in quest'ultimo decennio ha acquistato lo studio dei lipoidi cellulari, i quali forse al pari dei proteidi complessi rappresentano un costituente primario ed essenziale di tutte le cellule. Di già Quinque[1]) in base alle sue note ricerche di fisica molecolare era giunto ad ammettere l'ipotesi che le cellule fossero circondate d'uno strato di grasso capace di formare cogli alcali un sapone: in tal modo questo autore ha cercato di stabilire una teoria fisica per i movimenti del protoplasma, basata principalmente sulla tensione superficiale tra grasso, acqua e sapone. Tale dottrina è stata anche in gran parte adottata da Bütschli[2]). Ulteriori ricerche di Overton[3]) e Mayer[4]), istituite sul meccanismo col quale si produce la narcosi tendono anche ad ammetere ed a generalizzare l'importanza dei costituenti lipoidi delle cellule: questi AA. infatti partendo dal principio che i narcotici sono sostanze solubili nei grassi giungono ad ammettere che le cellule siano circondate da una membrana nella cui costituzione entrano dei lipoidi come la lecitina e la colesterina. Mayer

---

1) Quinque, Sitzungsber. d. Berliner Akad. d. Wissensch., 1888.
2) Bütschli, Unters. über mikr. Schäume und das Protoplasma. Leipzig 1892.
3) Overton, Studien über die Narkose, Jena 1901.
4) Mayer (v. Gazetta degli Ospedali, 1909).

va ancora più oltre ammettendo che da tale membrana lipoide partono dei setti della stessa natura che s' internano nel protoplasma.

Qesti autori però non hanno fornito una prova diretta per giustificare la loro teoria, prova che era necessaria, perchè secondo TRAUBE [1]) il meccanismo d' azione dei narcotici 'può avere una spiegazione differente di quella data da OVERTON e MAYER e cioè che i narcotici penetrano nelle cellule non già per la loro solubilità nei lipoidi, ma perchè essi abbassano la tensione superficiale — sicchè in fondo la teoria di OVERTON-MAYER è fondata alla sua volta sopra un' ipotesi, che ha bisogno prima di essere dimostrata.

A risultati più concreti si è giunti da alcuni anni a questa parte con ricerche istituite nel campo dell' immunità e specialmente per ciò che riguarda il meccanismo con cui si produce in alcuni casi l' emolisi.

Da parecchi si è tentato di mettere in evidenza con varii mezzi di osservazione i lipoidi cellulari. Col nome di lipoidi, in senso stretto, vanno generalmente intesi delle sostanze che pur avendo i caratteri generali dei grassi, godono di particolari caratteri fisici, chimici e biologici: in tale categoria vanno compresi generalmente le cosidette sostanze mieliniche, come la l e c i t i n a, la c o l e s t e r i n a e i l i p o i d i complessi come la l e c i t a l b u m i n a (LIEBERMANN), la j e c o r i n a (DRECHSEL), il p r o t a g o n o (LIEBREICH), le v i t e l l i n e (HOPPE-SEYLER), sostanze che, ad eccezione della colesterina, vengono riunite sotto il nome di f o s f a t i d i (THUDICHUM).

Anzitutto alcuni autori credono che le colorazioni vitali in genere siano dovute ai lipoidi: questo fatto sarebbe in fondo un corollario della dottrina di OVERTON secondo la quale nelle cellule non penetrano che le sostanze solubili nei lipoidi.

E. ALBRECHT [2]) specialmente ha utilizzatoper lo studio dei lipoidi la formazione di figure mieliniche: egli ha visto che, mantenendo dei frammenti di organi alla temperatura del corpo ed asettici, dopo un certo tempo si assiste alla formazione di figure mieliniche, che secondo l' A. derivano da una scissione post-mortale. Ne deduce da tali osservazioni che nel protoplasma, nella membrana nucleare e nel nucleolo si trovi una sostanza lipoide labilmente unita allo albumine e capace in date condizioni di separarsene: tale sostanza costituirebbe i „L i p o s o m e n".

---

1) TRAUBE, PFLÜGERS Arch., 1904.

2) E. ALBRECHT, Verh. Anat. Ges., 1902. — Verh. Deutsch. Path. Ges., 1902, 1903. — Beiträge path. Anat. BOLLINGER gewidmet, 1903.

KAISERLING ed ORGLER [1]) hanno utilizzato per lo studio delle sostanze mieliniche nelle cellule l'esame colla luce polarizzata di preparati freschi, ottenuti per strisciamento; in tal modo essi hanno riscontrato nelle surrenali, nel timo, nel corpo luteo ed in organi affetti da degenerazione grassa delle goccioline birifrangenti (doppeltbrechende), le quali riducono poco l'OsO_4 e dopo osmizzazione sono solubili in xilolo, cloroformio, olio di bergamotto.

RÉGAUD [2]) ha utilizzato per lo studio di alcuni prodotti di secrezione degli organi genitali e del rene l'antico metodo di WEIGERT per la mielina; BONNAMOUR [3]) ha applicato lo stesso metodo per la surrenale. RÉGAUD emette l'ipotesi che le sostanze messe in evidenza con questo metodo potrebbero essere delle lecitine.

LOISEL [4]) studia il diverso modo di comportarsi verso i solventi e verso alcune sostanze coloranti del grasso di porco e della lecitina e trova che quest'ultima si lascia tingere a preferenza da alcuni colori come il bleu di toluidina ed il violetto di genziana.

Finalmente un gran numero di autori ha cercato si differenziare alcuni lipoidi coll'OsO_4.

Esaminiamo un po' questi diversi processi d'indagine:

La formazione di figure mieliniche si osserva anzitutto in condizioni non fisiologiche, perchè queste rappresentano un derivato post-mortale: d'altra parte esse possono essere ottenute in date condizioni sperimentali con parecchie sostanze grasse: cosi oltre che colla lecitina, colesterina e protagono si possono ottenere mescolando in date condizioni acidi grassi, alcali ed acqua [NEUBAUER] [5]).

Similmente è noto che il carattere della birifrangenza è dovuto a parecchie sostanze oltre delle sostanze mieliniche.

Per quanto riguarda l'azione dell'OsO_4 sui grassi oramai è accertato che questo reattivo si riduce primieramente ed energicamente sui grassi contenenti acido oleico: quindi esso può servire semplicemente a differenziare i grassi contenenti nella loro composizione molecolare acido oleico da quelli contenenti acido stearico o palmitico o meglio ancora i grassi non saturati da quelli saturi senza dire poi che parecchie sostanze oltre ai grasi riducono l'OsO_4.

1) KAISERLING und ORGLER, VIRCHOW's Arch., 1902.

2) Cl. RÉGAUD, C. R. de la Sociétè de Biol. de Paris, 1901. — C. R. de l'Ass. des Anat. Liége, 1903.

3) BONNAMOUR, Les phénomènes de sécrétion de la surrénale chez les mammifères, Lyon 1905.

4) LOISEL, C. R. de la Soc. de Biol. de Paris, 1903.

5) NEUBAUER, Zeitsch. f. anal. Chemie, Bd. 6.

Per quanto riguarda il metodo di WEIGERT esso è fondato sul principio della formazione di una lacca cromo-ematossilinica, la quale è stabile per la mielina. WEIGERT[1]) pochi anni addietro ha ammesso che il bicromato in questo caso agisce a guisa di ambocettore.

WLASSAK[2]) ha cercato di stabilire quali tra le sostanze che compongono la mielina si colorano cel metodo di WEIGERT: a tale scopo egli si serviva di frammenti di carta da sigarette imbevute di sostanze pure ed è giunto alla conclusione che la colorazione è dovuta principalmente al protagono e forse anche alla lecitina.

I. LORRAIN SMITH e W. MAIR[3]) hanno anche cercato di stabilire quali tra le sostanze grasse si colorvanno col metodo di WEIGERT. In una prima serie di ricerche questi autori hanno trovato che l'acido oleico e l'oleina trattate in date condizioni con bicromato di potassa si colorano col metodo di WEIGERT: in tal caso questi grassi non saturati per azione del sale di cromo vengono ossidati e trasformati in un grasso saturo „l'acido diossistearico" il quale alla sua volta si combina con l'ossido di cromo; è appunto tale composto che darebbe origine alla lacca cromo-ematossilinica. In un altra serie di ricerche questi AA hanno trovato che altri grassi non saturati si comportano in modo simile; particolare importanza essi attribuiscono ad alcune combinazioni di colesterina et acidi grassi in proporzioni equimolecolari. Per quanto riguarda il protagono essi confermano le ricerche di WLASSAK; per riguardo alla lecitina detti AA. non si pronunziano recisamente, tendono però a credere che la lecitina pura forse poco o nulla si colori col processo di WEIGERT.

Però le ricerche chimiche istituite dagli autori stessi e da THORPE[4]) non giustificano le conclusioni a cui essi arrivano: infatti si nota dall'esame delle tabelle che l'azione prolungata del bicromato di potassa sui grassi non saturati agisce in modo che questi poco o nulla si colorino col metodo di WEIGERT. Risulta dalle ricerche chimiche di THORPE che facendo agire il bicromato di potassa sull'oleina, in un primo tempo si forma uno scarso precipitato risultante da una combinazione di acido oleico con ossido di cromo; prolungando l'azione del bicromato si forma acido diossistearico. Il primo composto è leggermente solubile in alcool e forma una lacca

1) WEIGERT, Encyklopädie d. mikr. Technik, Berlin und Wien 1903, p. 937.

2) WLASSAK, Arch. f. Entwickelungsmechanik d. Organismen, 1898.

3) I. LORRAIN SMITH and W. MAIR, The Journal of Pathology and Bacteriology, 1907, 1908.

4) THORPE, The Journal of Pathology and Bacteriology, 1908.

stabile coll'ematossilina, mentre il secondo prodotto non ha tale proprietà: l'autore non si pronunzia sulla natura del composto cromo-oleico, ma a quanto pare mi sembra che debba considerarsi come un sapone. Mettendo ora in confronto questi dati col fatto accertato che il protagono si colora col metodo di WEIGERT, che questa sostanza contiene acido stearico e palmitico, e che la guaina mielinica si colora col metodo di WEIGERT anche dopo prolungata azione del bicromato, non pare che si possa accordarsi colle conclusioni degli autori inglesi.

La proprietà di formare lacche stabili cromo-ematossiliniche pare che non appartenga soltanto a date sostanze grasse, ma a formazioni differenti: lo stesso RÉGAUD che ha largamente utilizzato il metodo WEIGERT nelle sue ricerche conviene su questo punto: Infatti con tale metodo si colorano: i globuli rossi e l'emoglobina, i granuli delle cellule cromaffini, alcuni nuclei, spesso il nucleolo, granuli di secrezione differenti; in altre parole tutte quelle sostanze capaci di trattenere più o meno stabilmente un composto cromico formano del pari una lacca stabile coll'ematossilina. D'altra parte tale metodo se riesce prezioso per la topografia delle fibre nervose può indurci in erronee interpetrazioni nelle ricerche di fina citologia: Infatti la stabilità della lacca alla decolorazione dipende dalla durata della cromizzazione, dallo spessore delle sezioni ed a parità di condizioni le formazioni lipoidi che presentano uno strato sottile naturalmente si decolorano prima di quelle che presentano uno spessore notevole. — Infine come fa notare MULON e come io stesso ho potuto constatare col metodo di WEIGERT-RÉGAUD si hanno spesso dei precipitati granulosi che possono ingannare l'osservatore.

Finalmente i reattivi coloranti proposti da LOISEL sono comuni alla lecitina ed a molte altre sostanze.

Sicchè in conclusione oggi noi non possediamo un metodo capace di differenziare i grassi comuni dai lipoidi propriamente detti.

In parecchi lavori io ho fatto menzione di un procedimento tecnico capace di mettere in evidenza alcuni lipoidi e precisamente le lecitine ed il protagono. Tale procedimento è un derivato del metodo di WEIGERT per la mielina ed è fondato sul principio seguente:

Trattando convenientemente le sostanze grasse coi sali di cromo si vede che la lecitina et il protagono resistono ai solventi dei grassi, mentre ciò non si verifica per i grassi neutri, per gli acidi grassi, per la colesterina: inoltre la lecitina ed il protagono dopo cromizzazione pur perdendo la proprietà di ridurre l'OsO_4 a freddo conservano la proprietà di tingersi colle sostanze coloranti specifiche dei grassi,

come il Sudan III, lo Scharlach R. ecc. Tali fatti ho potuto mettere in evidenza con esperimenti eseguiti sia con miscugli di sostanze grasse sia con grassi chimicamente puri.

I. Il procedimento che adopero per le ricerche citologiche è il seguente:

1) Fissazione di organi dello spessore di pochi millimetri nel liquido di CIACCIO per 24—48 ore:

Bicromato di potassa al 5 % —	100 cc³
Formolo (sol. al. 40 %)	20 cc³
Acido formico puro	4—5 gocce
oppure	
Acido acetico	5 cc³

(I pezzi fissati in formalina si trattano come se fossero freschi.)

2) Cromizzazione successiva dei pezzi per circa una settimana in soluzione di bicromato di potassa al 3 %.

3) Lavaggio in acqua corrente per 24 ore.

4) Serie degli alcools 24 ore; alcool assoluto 1—2 ore; alcool assoluto e solfuro di carbonio 1 ora [1]); solfuro di carbonio 1 ora; soluzione satura a 37 ° di paraffina fusibile a 60 ° in solfuro di carbonio per 1 ora; paraffina fusibile a 55 °—60 ° 1 ora.

Le sezioni attaccate ai vetrini secondo il metodo di HENNEGUY [2]) dopo essere state liberate dalla paraffina ed essere passate attraverso la serie degli alcools si colorano con una soluzione satura in alcool a 80 ° di Sudan III per 30'—45' (la soluzione di Sudan III deve essere preferibilmente preparata da qualche tempo e tenuta alla stufa; nel momento di adoperarla si lascia raffreddare e si filtra). Invece del Sudan si può anche adoperare lo Scharlach R.

Dopo la colorazione col Sudan si lavano le sezioni in alcool a 50 °—60 ° per liberarle dell'eccesso di colore e quindi in acqua distillata; come colorazione di contrasto si può adoperare una buona ematossilina, l'ematossilina ferrica, il Wasserblau in soluzione molto diluita, il Kristall-violett ecc.; indi nuovo lavaggio in acqua distillata ed inclusione in gomma-sciroppo di APÁTHY.

II. In parecchi casi riesce anche utile il procedimento seguente, fondato sul metodo MARCHI:

1) Fissazione in liquido di CIACCIO.

2) Cromizzazione per una settimana circa.

---

1) Al solfuro di carbonio si può sostituire lo xilolo od il cloroformio.

2) Si scioglie una quantità minima di gelatina in H_2O distillata tiepida e si aggiunge poi un cristallino di bicromato di potassa.

3) Passaggio nel liquido di MARCHI per 24—48 ore — e nuova cromizzazione per 48 ore.

4) Gli altri procedimenti come sopra.

Le sezioni si trattano come per il metodo precedente.

Col metodo I si vede che i grassi comuni e specialmente quelli che riducono primieramente l'OsO_4 si sciolgono; mentre alcuni lipoidi (delle guaine mieliniche, delle surrenali, dell'ipofisi, dei genitali ecc.) si colorano in rosso aranciato col Sudan III.

Col metodo II i lipoidi cromizzati riducono poco o nulla l'OsO_4, e si possono pereiò colorare sulle sezioni col Sudan; i grassi comuni invece e la colesterina appaiono di colorito nero, alcuni riducendo primieramente l'OsO_4 ed altri dopo il passaggio in alcool. In alcuni casi però si hanno risultati poco netti perchè spesso i lipoidi sono mischiati ai grassi comuni: in tali condizioni però con frequenza il lipoide è distribuito alla periferia della gocciola adiposa, la quale così presenta un centro nero ed un alone colorato in rosa o rosso-bruno.

Esposti così i metodi di ricerca per i lipoidi vediamo un po' meglio qual'è l'azione che esercita il bicromato di potassa sulle sostanze grasse in genere e sui lipoidi in ispecie.

Come abbiamo visto LORRAIN-SMITH e MAIR e THORPE danno una grande importanza ai grassi non saturati come l'acido oleico e l'oleina. A tale scopo ho creduto necessario instituire delle ricerche: Facendo agire una soluzione di bicromato di potassa al 5 % sull'oleina pura o sull'olio di uliva e agitando frequentemente il miscuglio dopo alcuni giorni (una settimana circa) si notano delle goccioline che non hanno subita alcuna azione, mentre una parte dell'olio si presenta di colorito bianco-grigiastro e torbido: raccogliendo quest' ultima ed esaminandola al microscopio si vede che essa è costituita di una massa liquida nella quale stanno sospesi delle formazioni irregolari o di aspetto vagamente cristallino; se si fa agire una soluzione di Sudan questo colora il liquido fondamentale in rosa ed anche alcune delle particelle sospese, mentre altre e specialmente quelle di aspetto cristalino non si colorano affatto. Assoggettando l'olio così trasformato ai diversi solventi si vede che esso: è insolubile in acqua poco solubile in alcool ed etere freddo, solubile in alcool ed etere caldi, solubile in cloroformio e xilolo, solubilissimo in solfuro di carbonio. Se si spalma un vetrino e si sottopone all'azione del solfuro di carbonio, cloroformio o xilolo si scioglie rapidamente ed osservando al microscopio non si osservano che alcuni corpiccioli di aspetto cristallino, i quali non si colorano col Sudan.

Se si acidifica il bicromato con acido formico od acetico le trasformazioni si verificano più rapidamente come pure un'azione accelerante esercita la temperatura.

Facendo agire il bicromato sull'acido oleico le trasformazioni su accennate si verificano in un tempo minore.

Nulla di notevole si osserva per ciò che riguarda l'acido stearico e palmitico e per la colesterina.

Facendo agire la soluzione di bicromato sulla lecitina pura e sul protagono per circa una settimana si osserva anzitutto che essi contrariamente a quanto si verifica per gli altri grassi si lasciano imbibire facilmente e le goccioline esaminate al microscopio appaiono di colorito gialletto. Tali lipoidi cromizzati si mostrano insolubili in acqua, alcool, etere, cloroformio, solfuro di carbonio, xilolo, trementina e si lasciano facilmente colorare del Sudan III e dallo Scharlach R; non riducono più l'OsO_4.

Sottoponendo miscugli di sostanze grasse come: burro, grasso di maiale, di uomo, miscugli di colesterina e grassi neutri od acidi grassi, all'azione del bicromato di potassa non si hanno risultati degni di nota, almeno per quanto riguarda lo scopo che si prefigge il mio processo di tecnica.

Se si istituiscono dei confronti tra il mio processo ed i metodi di Weigert (colle sue modificazioni di Pal, Vassale, Kultschinski) si vede che con questo ultimo quando la differenzazione è ben riuscita si mettono in evidenza altre formazioni che il Sudan non colora.

Infatti ammettendo che l'acido oleico e l'oleina vengano ossidati si ha come risultato la formazione di Cr_2O_3, formazione acidi grassi saturi e probabilmente anche saponi di Ka e di Cr; il sesquiossido di Cr essendo insolubile rimane sulle sezioni anche dopo lavaggio abbondante e può formare delle lacche cromo-ematossiliniche e così i saponi di Cr, mentre i grassi saturi si sciolgono nei solventi adoperati per l'inclusione in paraffina. Inoltre si trovano nei tessuti altre sostanze capaci o di combinarsi col Cr o di ridurre il bicromato e formare perciò delle lacche cromo-ematossiliniche. Nulla invece di tutto ciò si verifica col mio processo, col quale siamo sicuri di colorare soltanto i grassi rimasti indisciolti. Forse è possibile che altri lipoidi che non sia la lecitina si comportino in modo tale da resistere ai solventi, ma possiamo affermare che se essi esistono debbono essere dei lipoidi complessi. Ad ogni modo sino a prova in contrario mi servirò del vocabolo lecitina, lecitinico ecc. per denotare quei lipoidi che dopo cromizzazione resistono all'azione dei solventi.

Descriverò un po' sommariamente i risultati delle mie ricerche.

Anzitutto io riunisco sotto il nome di tessuti a prevalente metabolismo lipo-lipoide: gli elementi di riserva dei vegetali (bulbi, semi); il tessuto adiposo; le cellule interstiziali del testicolo e dell'ovajo e le cellule della corteccia surrenale. Tutti questi elementi presentano particolarità strutturali ed istochimiche molto simili e almeno una funzione comune qual'è quella di elaborare dei lipoidi in maggiore o minore quantità a seconda lo stadio di funzionalità.

I. Tessuti a metabolismo lipo-lipoide.

1) Elementi di riserva dei vegetali. Nei semi di mandorla nel loro periodo di vita latente le cellule contengono come materiali di riserva oltre ad amido ed aleurone una grande quantità di grassi, i quali in gran parte: a) riducono primieramente l'OsO_4 e dopo osmizzazione sono pochissimo solubili in xilolo; b) non si lasciano influenzare dell'azione dei sali di cromo; c) si tingono rapidamente in un bel rosso aranciato col Sudan III; in conclusione tali grassi hanno in gran parte i caratteri dei grassi comuni, tra i quali a preferenza sono rappresentati i grassi oleici. Durante la germinazione, specialmente alla periferia del seme e in corrispondenza dell'embrione si osservano specialmente negli interstizii cellulari delle grosse gocciole di lipoidi, i quali dopo cromizzazione diventano insolubili nei solventi (lecitina). Nelle cellule dell'embrione poi si trovano granuli della stessa natura e goccioline in cui la periferia è costituita dallo stesso lipoide.

Nei bulbi di Allium sativum si notano nelle cellule degli strati più interni durante il germogliamento numerosissimi granuli e gocciole lipoidi; lo stesso si verifica nelle cellule della pianticella in via di sviluppo.

2) Elementi di riserva degli animali. Ho rivolto la mia attenzione al tessuto adiposo dei mammiferi, ai corpi grassi inguinali di Anfibii del genere Bufo e Bombinator.

La cellula adiposa nel suo periodo di riposo è costituita come è noto da una grossa vescicola adiposa alla quale sta addossato un nucleo quasi atrofico, circondato da scarso protoplasma, e da una membrana che in dati casi presenta un doppio contorno. I grassi che costituiscono la grossa vescicola sono grassi comuni, però nello spessore della membrana e nel protoplasma perinucleare si notano finissime granulazioni lipoidi; tale particolarità si osserva chiaramente nelle cellule adipose degli Anfibii, nelle cellule adipose del midollo osseo ed in quelle che si trovano nella cavità toracica ed addominale (epiploon, grasso peri-renale ecc.); meno chiaramente si osservano nel grasso sotto-

cutaneo dei Mammiferi. A misura che la funzionalità di tali cellule aumenta per cause svariatissime (infezioni, dimagramento, intossicazioni ecc.), a misura che aumenta da una parte il protoplasma perinucleare e d'altra parte diminuisce il contenuto grassoso della vescicola adiposa, aumenta notevolmente la quantità di lipoidi lecitinici, fino al punto da avere delle cellule quasi esclusivamente contenenti lipoidi[1]. Tali fenomeni si verificano più raramente nel grasso sottocutaneo.

3) Cellule lecitiniche. Con questo nome io ho designato alcuni elementi che si trovano nei tessuti emopoietici, nel tessuto adiposo e nei tessuti infiammatorii. Esse hanno una grande somiglianza con le cellule interstiziali del testicolo e dell' ovajo e presentano i caratteri seguenti: 20—30 μ di grandezza; nucleo centrale di grandezza varia, spesso provvisto di nucleolo; forma rotonda, poliedrica, piriforme, irregolare; nel protoplasma presentano numerose gocciole e granuli lipoidi.

Tali elementi ben definiti dal punto di vista istochimico possono rappresentare o uno stadio avanzato della cellula adiposa, oppure possono originare da elementi del connettivo oppure possono essere dei macrofagi, i quali elaborano i lipoidi un processo digestivo delle emazie e dei leucociti inglobati.

Tanto nelle cellule adipose, quanto nelle cellule lecitiniche che nelle cellule di riserva dei vegetali sono dimostrabili immagini di secrezione che si possono mettere in evidenza colla fuxina acida e coll'ematossilina ferrica.

4) Cellule interstiziali del testicolo e dell'ovajo. In tutti gli animali da me studiati ed appartenenti a diverse classi di Vertebrati tali cellule presentano numerose gocciole e granuli lipoidi, che sono particolarmente abbondanti durante l'attività degli organi genitali.

5) Elementi della corteccia surrenale. Durante la scarsa attività di quest'organo i grassi comuni sono in prevalenza; però si trovano in discreta quantità i lipoidi specialmente nei primi strati della zona fascicolata e nella zona reticolare. In quest'ultima parecchi tra i granuli di pigmento (uomo, cavia) si presentano avvolti da un atmosfera lipoide. Durante l'attività i lipoidi aumentano notevolmente in tutte le zone; particolarmente evidenti si mostrano col mio processo le cellule siderofile di Ciaccio[2]. Queste si presentano costituite di un

1) Ciaccio, Folia haematologica, 1909. — Centralbl. f. allg. Pathol. und pathol. Anat., 1909.

2) Ciaccio, Anat. Anzeiger, 1903, 1906. — Arch. italiennes de Biol., 1905.

nucleo ipercromatico e di un protoplasma contenente numerosi e grossi corpi lipoidi, caratteristica per la quale spiccano sugli elementi circostanti. Tale fatto conferma l'opinione di BONNAMOUR[1]), il quale considera le cellule siderofile come elementi in fase funzionale avanzata.

6) Finalmente ricordo che anche negli organi di generazione dei vegetali (ovaio, stami di Iris germanica) si notano cellule contenenti granuli lipoidi.

II. Elementi connettivali e tessuti emopoietici.

Si notano lipoidi nelle cellule fisse del connettivo in proliferazione, nelle cellule avventiziali di MARCHAND, nelle cellule giganti. Per maggiori particolarità rimando al mio lavoro avanti citato (Centralbl. für allg. Pathol. und pathol. Anat., 1909). Per ciò che riguarda i tessuti emopoietici rimando al mio lavoro „Sulla Fisiopatologia dei tessuti emopoietici" (Folia haematologica, 1909).

Per quanto riguarda il timo (gatto, cane, uomo) notiamo: cellule lecitiniche; mielociti contenenti granuli di lipoide; infine pare che la degenerazione a cui vanno incontro alcuni elementi che poi costituiscono i corpuscoli di HASSAL sia una vera degenerazione lecitinica[2]).

III. Rene.

Com'è noto parecchi autori hanno descritto scarsi granuli di grasso negli elementi renali: GURWITSCH[3]) ha descritto dei vacuoli il cui contorno si colora in nero con OsO_4; REGAUD et POLICARD[4]) descrivono granuli e vescicole colorabili col metodo di WEIGERT; recentissimamente anche MULON[5]) descrive i grassi che si riscontrano negli epitelii renali.

Col mio metodo di ricerca si mettono in evidenza quantità relativamente notevoli di lipoidi, specialmente negli Anfibii: raccomando per tali ricerche il rene di questi ultimi animali (genere Bufo, Bombinator), che come del resto per le ricerche citologiche in genere, ci forniscono delle immagini quasi schematiche.

Anzitutto negli Anfibii le cellule connettivali, situate tra i tubuli renali, presentano per lo più ai poli di un nucleo ellittico delle grosse

---

1) BONNAMOUR, Les phénomènes de sécrétion de la surrénale chez les mammifères, Lyon 1905.

2) CIACCIO, in corso di pubblicazione.

3) GURWITSCH, PFLÜGERS Archiv, 1902. — Morphologie und Biologie der Zelle, Jena, G. Fischer, 1904.

4) REGAUD et POLICARD, C. R. de la Soc. de Biol. de Paris, 1902.

5) MULON, C. R. de la Soc. de Biol., 1909.

vescicole, in cui col mio metodo si colora solo il contorno, mentre impiegando il metodo di Marchi (modificato come sopra) prendono quasi in totalità una tinta nera, poichè solo la perferia è colorabile col Sudan. Oltre a tali vescicole si notano minutissimi granuli lipoidi. Nei glomeruli si notano anche granuli e vescicole lipoidi più o meno abbondanti a seconda la funzionalità del rene. Nei tubuli secernenti in fase di riposo si ha l'impressione che i bastoncini di Heidenhain siano impregnati di lipoidi; in preparati colorati con Sudan e Wasserblau essi prendono una tinta orange che spicca sul resto del protoplasma colorato in azzurro-cielo; inoltre o applicati sui bastoncini o tra questi si notano dei fini granuli tinti in rosso-aranciato. Nelle fase di attività al posto dei bastoncini si notano granuli e formazioni che danno l'impressione di bastoncini frammentati, colorati in rosso-aranciato dal Sudan; similmente nella zona distale tra i granuli di secrezione colorati in azzurro-cielo dal Wasserblau si notano granuli finissimi e vescicole colorabili dal Sudan.

In casi di diuresi abbondante, provocata con iniezioni saline nella cavità peritoneale, i lipoidi sono abbondantissimi e si notano con grande frequenza delle vescicole di cui la periferia è colorabile dal Sudan. Fatti simili ma con minore chiarezza si osservano nei Mammiferi.

IV. Organi genitali maschili.

Un ottimo materiale di studio ci viene fornito dal testicolo del topo.

I lipoidi sono abbondanti nelle cellule di Sertoli in cui appariscono sotto forma di grossi blocchi colorati quasi totalmente dal Sudan in arancio o rosso-arancio e sotto forma di numerosi e minutissimi granuli; non ho mai osservato quelle forme descritte da Regaud e da Broman col metodo di Weigert [vésicules de sécretion (Regaud) — Korbbläschen (Broman)] e cioè una specie di vescicole agglomerate. Le spermatogonie presentano col mio metodo un endoplasma colorato in rosa o leggermente in orange come se esso fosse imbibito da una sostanza grassa, si osservano però anche finissimi granuli decisamente lipoidi; il c o r p o a c c e s s o r i o (Nebenkern) si lascia anch'esso colorare debolmente dal Sudan; in preparati colorati con Sudan ed emateina questa formazione prende una tinta intermedia.

Nelle spermatidi il fatto più notevole consiste nelle trasformazioni a cui va incontro il c o r p o a c c e s s o r i o: questo nei primi stadii presenta una tinta più intensa col Sudan, ma diffusa; mano mano che procede l'evoluzione delle spermatidi si notano nell'interno di esso dei granuli finissimi intensamente colorati in rosso-aranciato. Quando gli

elementi suddetti stanno per trasformarsi in spermatozoi al posto del corpo accessorio si nota un ammasso di piccoli granuli rotondi decisamente lipoidi e che danno l'apparenza di una morula; tali granuli si possono seguire anche negli spermatozoi.

V. Organi genitali femminili.

Nell'ovajo, oltre che nelle cellule interstiziali, si notano piccoli granuli di lipoidi nell'epitelio germinativo nelle uova in via di sviluppo, nelle cellule follicolari e nell'uovo sviluppato. In questo si notano granuli intensamente colorati in rosso-arancio dal Sudan, vescicole in cui è colorato l'orlo periferico e delle formazioni le quali presentano un substratum, forse di natura proteica, ed un rivestimento lipoide. Interessante è l'evoluzione a cui va incontro il corpo vitellino di Balbiani e che presenta molta analogia col corpo accessorio delle cellule sessuali maschili: questo in una prima fase presenta una tinta intermedia tra il Sudan e l'ematossilina, mano mano che aumenta di volume compaiono nel suo interno dei granuli di lipoidi che divengono sempre più numerosi.

Le cellule del corpo luteo presentano anch'esse una struttura differente a seconda dello stadio in cui esse vengono esaminate: i lipoidi rari in un primo stadio aumentano sino al punto da occupare sotto forma di grossi globi tutto il protoplasma in modo da rendere eccentrico ed atrofico il nucleo.

VI. Cellule nervose.

Obersteiner[1]) ha principalmente attirato l'attenzione sulla proprietà che ha il pigmento giallo delle cellule nervose di ridurre l'acido osmico: tanto che in preparati allestiti col metodo di Marchi esso apparisce di colorito nero. Tale autore dice che si tratti di un corpo simile a grasso (fettähnlich). Rosin[2]) considera il pigmento delle cellule nervose come un lipocromo e con lui parecchi altri condividono lo stesso modo di vedere. Marinesco[3]) parla anch'egli di pigmento colorabile col Sudan III. In conclusione questi autori ed altri ancora ammettono che in parecchie cellule nervose si trovi un pigmento che si comporta come le sostanze grasse.

Io ho studiato i lipoidi delle cellule nervose in parecchi vertebrati

---

1) Obersteiner, Arbeiten aus dem Neurologischen Institut, 1904.
2) Rosin, Deutsche med. Wochenschr., 1898.
3) Marinesco, Revue neurologique, 1899. — Revue de Psychiatrie, 1905.

ed in diverse condizioni sperimentali e patologiche ed ho ottenuto, come al solito, risultati eccellenti negli Anfibii.

Le cellule dei gangli spinali e le cellule del corno anteriore del midollo spinale del Bufus ci offrono degli esempii classici. In tali elementi notiamo:

1) Lipoidi (dimostrabili col mio processo) sotto forma di granuli di differente grandezza, da puntiformi cioè alla grandezza di 2 μ circa, e di vescicole in cui solo il contorno è di natura lipoide.

2) Pigmento contenente una sostanza lipoide; escludo però che si tratti di lipocromo e ciò oltre al fatto che tale pigmento non presenta le reazioni dei lipocromi anche perchè nei pezzi fissati in miscele di alcool e cloroformio, e trattati con xilolo o trementina per l'inclusione, si osserva il pigmento, ma questo non si colora più col Sudan. Si tratta adunque di un pogmento e di un lipoide uniti più o meno labilmente.

3) Formazioni speciali le quali sembrano essere costituite di un substratum proteico, imbibito od avvolto di lipoide; tali formazioni che da una parte si rendono evidenti colla fuxina acida e dall'altra si colorano col Sudan, hanno grandezza differente. Debbo notare che tali formazioni sono nettamente differenziabili da quelli che ho descritto in 1) per il fatto seguente: I lipoidi della prima categoria non pendono mai la fuxina acida; tutto al più con questa prendono una leggiera tinta rosea; mentre quelli della 3a categoria presentano per questa tinta una spiccata affinità.

(Accenno semplicementa a questi fatti, perchè dovrò occuparmene in un lavoro speciale.)

Nei gangli spinali del rospo anche le cellule che costituiscono la capsula delle cellule nervose presentano nel loro protoplasma granuli e vescicole lipoidi in quantità rilevante.

Nei mammiferi i lipoidi della prima categoria sono meno abbondanti che negli Anfibii.

Debbo far notare anche di volo che nella sostanza grigia dei centri fuori delle cellule si osservano granuli della 1a e 3a categoria sopra-esposti.

VII. Finalmente si riscontrano granuli e vescicole lipoidi nel pancreas, nel fegato, nell'ipofisi, nella tiroide, nella paratiroide, nei muscoli lisci e striati e nel muscolo cardiaco.

Como si vede da questo breve cenno tutte le cellule dell'organismo contengono in quantità più o meno rilevante dei lipoidi, che con grande probabilità sono di natura lecitinica.

Il metabilismo di tali sostanze è notevole in alcuni elementi che io ho riunito in un gruppo detto „a prevalente metabolismo lipo-lipoide"; a tale gruppo come abbiamo visto appartengono anche le cellule adipose per le quali credo, in base alle mie ricerche, che bisogna modificare ciò che sinora si è pensato: Esse probabilmente hanno la funzione di somministrare all'organismo, a seconda dei suoi bisogni, dei lipoidi lecitinici a spese dei grassi neutri immagazzinati allo stesso modo che il glicogeno immagazzinato dalle cellule epatiche si trasforma in glucosio.

Del resto forse tutte le cellule, in proporzioni minori, godono di tale proprietà.

Ringrazio il Direttore dell'Istituto Prof. G. Parlavecchio per l'interesse col quale segue le mie ricerche e per i mezzi che mette sempre a mia disposizione.

Palermo, 1. Luglio 1909.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.